

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Basel

Vorsteher: Prof. Dr. E. Ludwig

Arbeit unter Leitung von Prof. Dr. G. Wolf-Heidegger

Das histochemische Bild der Phosphatasen in der Schilddrüse normaler sowie mit Thiouracil und Thyroxin behandelter Ratten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät der
Universität Basel

vorgelegt von

Kuno Steger

von S. Lorenzo (Bolzano)



Basel 1951

Verlag von S. Karger in Basel

Von der Medizinischen Fakultät der Universität Basel genehmigt
auf Antrag von Prof. Dr. G. Wolf-Heidegger.

Tag der Promotion: 9. November 1951.



Aus dem Anatomischen Institut der Universität Basel
Vorsteher: Prof. Dr. E. Ludwig

DAS HISTOCHEMISCHE BILD
DER PHOSPHATASEN IN DER SCHILDDRÜSE
NORMALER SOWIE MIT THIOURACIL UND
THYROXIN BEHANDELTEN RATTEN¹⁾

von KUNO STEGER

¹⁾ Die Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung von Prof. Dr. med et
phil. *Gerhard Wolf-Heidegger* durchgeführt.

INHALT

	Seite
I. Einleitung	247
II. Besprechung der Literatur	247
1. Die Schilddrüse	247
2. Thiouracil und Schilddrüse	247
3. Thyroxin und Schilddrüse	248
4. Thiouracil+Thyroxin und Schilddrüse	248
5. Die Phosphatasen der Schilddrüse	248
III. Material und Technik	249
IV. Morphologische Befunde	250
1. Kontrollorgan	250
2. Die Schilddrüse der mit Thiouracil behandelten Ratten	251
3. Die Schilddrüse der mit Thyroxin behandelten Ratten	252
4. Die Schilddrüse der mit Thiouracil+Thyroxin behandelten Ratten	252
V. Histochemische Befunde	253
A. Alkalische Glycerophosphatase	253
1. Kontrollorgan	253
2. Die Schilddrüse der mit Thiouracil behandelten Ratten	254
3. Die Schilddrüse der mit Thyroxin behandelten Ratten	256
4. Die Schilddrüse der mit Thiouracil+Thyroxin behandelten Ratten	256
B. Saure Glycerophosphatase	257
1. Kontrollorgan	257
2. Die Schilddrüse der mit Thiouracil behandelten Ratten	258
3. Die Schilddrüse der mit Thyroxin behandelten Ratten	259
4. Die Schilddrüse der mit Thiouracil+Thyroxin behandelten Ratten	259
VI. Diskussion	261
VII. Zusammenfassung	263
VIII. Literatur	266

I. Einleitung.

Die nachfolgende Arbeit beschäftigt sich mit dem histochemischen Nachweis und dem Verhalten der alkalischen und der sauren Glycerophosphatase in der normalen und der in ihrer Aktivität künstlich veränderten Rattenschilddrüse. Die Aktivitätsänderung wurde durch Verabreichung von Thiouracil und Thyroxin hervorgerufen; auch bei gleichzeitiger Verabfolgung der beiden Substanzen wurde das Verhalten untersucht¹⁾.

Parallel mit dem Enzymnachweis erfolgte eine Prüfung des mikroskopisch-anatomischen Bildes der Thyreoidea. Hierzu wurden die üblichen Färbemethoden (Azan, Hämalun-Benzopurpurin und Kernechtrot-Lichtgrün) ausgeführt unter Verwendung der gleichen Fixation wie beim Phosphatasenachweis.

Neben den Befunden in der Schilddrüse interessieren auch diejenigen an anderen Organen der Versuchstiere. Hierüber wird *A. L. Meier* später berichten.

II. Besprechung der Literatur.

1. Die Schilddrüse²⁾.

Jede Aktivitätsänderung der Schilddrüse beeinflusst das Strukturbild des Organs: Form und Größe der Follikel schwanken. Die Zellhöhe des einschichtigen Follikel­epithels wechselt von cylindrischer Form bei Hyperaktivität zu flacher endotheloider Form bei Hypoaktivität, wobei die Kernform derjenigen der Zelle angepaßt ist. In den apikalen Cytoplasma-Anteilen finden sich Sekret- bzw. Prosekretkörper, die als Vorstufe des Kolloides gelten und deren Menge ebenso wie die der Kolloideinschlüsse und das Verhalten der Mitochondrien gleichfalls vom Aktivitätsgrad abhängen. Schließlich wechseln die Lumenweite der Follikel und das Verhalten des Kolloids.

Das histologische Bild ist in der Organperipherie anders geartet als im Zentrum und kann auch in den beiden Lappen des Organs verschieden sein.

2. Thiouracil und Schilddrüse³⁾.

Thiourea und ähnliche Stoffe beeinflussen die Thyroxinsynthese in hemmendem Sinne. In mikroskopisch-anatomischer Hinsicht bietet die Schilddrüse zwar das Bild hoher Aktivität, doch ist der Grundumsatz herabgesetzt. Langdauernde

¹⁾ Herrn Prof. Dr. *W. Schuler* (Biolog. Abt. der CIBA A. G. Basel) bin ich für höchst wertvolle Anregung, sowie der CIBA A. G. Basel für die großzügige Beschaffung des Tiermaterials zu besonderem Dank verpflichtet; ferner spreche ich Herrn Dr. *A. L. Meier* für seine freundliche Anleitung und Mitarbeit sowie Herrn *A. Wolf* für seine technische Hilfe meinen besten Dank aus.

²⁾ Übersichtsreferate mit ausführlicher Literaturangabe: *Florentin* 1932, *Trendelenburg* 1934, *Bargmann* 1939, *Verzár* 1948.

³⁾ Literatur: *Mackenzie - Mackenzie* 1943, *Astwood-Sullivan-Bissell-Tyslowitz* 1943, *Dempsey* 1944, *Rawson-Tannheimer-Peacock* 1944, *Williams-Bissell* 1945, *Engle-Aranow* 1946, *Rerábek-Rerábek* 1947 etc.

Verabreichung führt zum klinischen Bild der Hypothyreose. Die Schilddrüsenveränderungen unter Thiouracileinfluß bestehen in Vergrößerung und Rötung des Organs infolge Neubildung zahlreicher Follikel und starker Füllung der Blutgefäße. Die Form der Follikel wird unregelmäßig; die Epithelzellen werden hochzylindrisch und engen daher das Follikellumen ein, bis davon unter Umständen nur noch ein dünner Spalt erhalten bleibt. Das Kolloid wird vermindert; es ist wässrig, erscheint vakuolisiert und sein Anteil an fluoreszierenden Substanzen nimmt ab. Die Zellkerne werden länglich, erscheinen hypertrophisch und sind in der Zelle etwas nach basal verschoben. Das Cytoplasma zeigt im apikalen Bereich intensivere Färbung und besitzt wegen des Gehaltes an Sekretvorstufen eine trübe, granuläre Struktur.

3. *Thyroxin und Schilddrüse*¹⁾.

Thyroxin hat nach experimentellen Beobachtungen die volle Wirkung von Schilddrüsensubstanz. Unter seinem Einfluß verändert sich die Thyreoidea im Sinne einer Funktionsverminderung bzw. Unterdrückung der Drüsentätigkeit. Das Organ verkleinert sich, die Follikel werden weiter und enthalten ein zähflüssiges, intensiv färbbares Kolloid; dieses fluoresziert und erscheint nicht vakuolisiert. Die Follikelepithelzellen werden niedriger bis endotheloid; die Zellkerne werden länglich oval, scheinen plattgedrückt und färben sich intensiv. Prosekretkörner, die als Indikatoren für den Funktionszustand gewertet werden können, finden sich kaum im Protoplasma; die intrazellulären Kolloidtropfen fehlen vollständig. Dieser Funktionsausfall ist als Schutzvorgang gegen eine Überschwemmung des Körpers mit Schilddrüseninkret aufzufassen.

4. *Thiouracil+Thyroxin und Schilddrüse*²⁾.

Gleichzeitige Behandlung mit Thiouracil und Thyroxin ruft bei einer bestimmten Dosierung weder eine makro- noch eine mikroskopisch erfaßbare Schilddrüsenveränderung hervor; es resultiert auch kaum eine Veränderung des Kolloids. Erfolgt die Thyroxinbehandlung im Anschluß an diejenige mit Thiouracil, so tritt eine Verminderung bzw. Restitution der unter Thiouracilmedikation entstandenen Thyreoideahyperplasie ein. Die Verminderung der Hyperplasie erfolgt proportional der Menge des Schilddrüsenhormons. Das unter Thiouracilwirkung geschwundene Kolloid beginnt wieder in den Follikeln zu erscheinen. Es tritt auch dann wieder auf, wenn die Schilddrüsenhyperplasie sich noch nicht restlos zurückgebildet hat, aber es weist im Vergleich zum normalen Kolloid qualitative Unterschiede auf. Da Thiouracil in histologischer Hinsicht das Bild einer aktiven und Thyroxin dasjenige einer inaktiven Schilddrüse hervorruft, so kann bei bestimmter Dosierung und Verabreichung der beiden Substanzen offenbar das histologische Bild einer normalen Schilddrüse von mittlerer Aktivität resultieren.

5. *Die Phosphatasen der Schilddrüse.*

Gomori (1941) wies erstmals in den Kapillarwänden der Schilddrüse *alkalische Glycerophosphatase* nach. Die Reaktion im Kolloid, die sich als diffuse Färbung

¹⁾ Literatur: Kuschinsky 1933, Loeser 1934, Trendelenburg 1934, Eggert 1935/36, Koszyk 1936, Dempsey 1944.

²⁾ Literatur: Dempsey-Astwood 1943, Dempsey 1944, Higgins-Dwight 1946.

zeigt, soll unspezifisch sein und auch ohne Einwirkung der Inkubationslösung erzielt werden. *Wolf, Kabat und Newman* (1943) geben als Lokalisation des sauren Enzyms die Follikel epithelzellen an, und zwar soll in den Epithelzellkernen mäßig saures Ferment, im Cytoplasma und Kolloid noch weniger vorkommen. Die Autoren bestätigen das von *Gomori* beschriebene Vorhandensein des alkalischen Fermentes in den Blutgefäßwänden. *Bourne, Mackenzie und Mackinnon* (1944) fanden in der Schilddrüse kein alkalisches Ferment. *Dempsey und Singer* (1946) befaßten sich ausführlich mit dem Phosphatasenachweis in der Schilddrüse von normalen Ratten sowie von Tieren, bei denen der Aktivitätszustand dieses Organs durch Temperaturwechsel und Thiouracilbehandlung verändert war. Diese Autoren fanden sowohl für die alkalische wie für die saure Glycerophosphatase eine unterschiedliche Verteilung der Fermentreaktion in dem Sinne, daß der Kern stärker reagiert als das Cytoplasma, welches seinerseits eine Abnahme der Reaktionsintensität von apikal nach basal erkennen läßt. In den Gefäßwänden fanden *Dempsey und Singer* nur alkalische Hexosephosphatasen und keine alkalische Glycerophosphatase.

Im weiteren beobachteten die genannten Autoren bei einer Inkubationszeit von sechs Stunden eine spärliche *alkalische* Glycerophosphatase-Reaktion in den Epithelien der peripheren, inaktiven Follikel der Rattenschilddrüse. Die Kapillärwände hingegen zeigten reichlichen Fermentgehalt. Bei einer Inkubationszeit von mindestens 48 Stunden stellten *Dempsey und Singer* das Vorkommen der sauren Fermentreaktion in den Zellen der zentralen, aktiven Follikel fest. Die Autoren bestätigen somit den von zahlreichen Forschern auf Grund morphologischer Studien angenommenen Unterschied zwischen den peripheren und zentralen Schilddrüsenfollikeln. *Dempsey und Singer* weisen noch kurz auf ein verschiedenes quantitatives und qualitatives Verhalten der Enzymreaktion bei Aktivitätsänderungen hin. *Erhöhte Aktivität* der Schilddrüse soll eine *Verstärkung der Reaktionsintensität* des sauren Fermentes und eine *Verminderung* derjenigen des alkalischen Fermentes bedingen. Die Verminderung der alkalischen Phosphatasen unter Thiouracileinwirkung wird von *Grunt und Leatham* (1949) bestätigt im Gegensatz zu *Kroon* (1949), der auch in den Blutgefäßwänden eine Zunahme feststellt. Schließlich berichtet *Meier* (1950) über eine erhöhte alkalische Glycerophosphatasereaktion in den Kapillaren und im Epithel der Schilddrüse von Hungerratten, bei denen die Drüsenaktivität verringert ist.

III. Material und Technik.

Als Versuchstiere dienten Ratten von 100 g Körpergewicht. Bis zum Versuchsbeginn und während der Versuche wurden die Tiere stets unter den gleichen optimalen Ernährungs- und Umweltbedingungen (Temperatur, Licht, Feuchtigkeit) gehalten.

Es wurden zwei Serien von je 12 Ratten untersucht. Jede Serie zerfällt in drei Gruppen, von denen jede Gruppe eine verschieden lange Vorbereitungszeit (7, 14, und 21 Tage) aufweist. In jeder dieser Gruppen wurde ein Tier mit Thiouracil (20 mg pro die per os) ein zweites mit Thyroxin (20 γ pro die subcutan) ein drittes mit Thiouracil (20 mg pro die per os) + Thyroxin (20 γ pro die subcutan) behandelt; das vierte diente als Kontrolltier.

Die histochemische Darstellung der alkalischen und der sauren Glycerophosphatase erfolgte nach der von Meier (1950) modifizierten Originalmethode Gomori (1939, 1941, 1946).

Die Schilddrüsen der durch Nackenschlag getöteten Ratten werden innert 20 Std. über Aceton von 0° C, Aceton von Zimmertemperatur und Benzol für 2 Std. in Paraffin von 54° C gebracht. Die auf Objektträger aufgezogenen, 10 μ dicken Schnitte werden nach dem Entparaffinieren den Inkubationslösungen ausgesetzt, die als Substrat das Na- β -Glycerophosphat (*Eastman and Kodak*) enthalten.

Die Inkubationslösung wird für jeden Versuch frisch zubereitet und das pH von 9,2 bzw. 4,7 mit Hilfe einer Glaselektrode bestimmt. Die Einwirkungsdauer der Inkubationslösung beträgt für das alkalische Ferment 2, 4 und 24 Stunden, für das saure 10 und 24 Stunden. Das Entwickeln der Präparate gestaltet sich bei der Methode zum Nachweis der alkalischen und sauren Phosphatasen verschieden entsprechend den Vorschriften von Gomori (1946). Abschließend erfolgt Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe und Einschluß in Dammarlack.

IV. Morphologische Befunde.

1. Kontrollorgan.

Auf eine eingehende Beschreibung der Strukturverhältnisse in der normalen Schilddrüse kann an dieser Stelle verzichtet werden. Es sei auf die sehr zahl- und umfangreichen einschlägigen Publikationen (s. unsere Besprechung der Literatur) hingewiesen. Dort wurden auch kurz alle jene Gewebsbestandteile genannt, die von Aktivitätsänderungen des Organs besonders betroffen werden. Vor allem muß auf den deutlichen regionalen Größenunterschied der rundlich-ovalen Follikel hingewiesen werden; in der Organperipherie liegt eine schmale Zone von großen und weiten, inaktiven Follikeln, die reichlich mit Kolloid gefüllt sind; dieses ist nur in Epithelnähe vakuolisiert. Im Zentrum hingegen befinden sich kleinere und engere, aktive Follikel, die wenig Kolloid enthalten. Die periphere großfollikuläre Randzone ist sehr dünn; der Größenunterschied gegenüber den zentralen Follikeln ist besonders auffallend, da er unvermittelt und ohne jeden Übergang stattfindet. Die einschichtigen Epithelzellen haben kubisch-prismatische Gestalt und sind in den kleineren zentralen Follikeln etwas höher als in denjenigen der Peripherie. Die Kerne sind rund bis oval; ein Größenunterschied zwischen zentral und peripher ist nicht auffallend. Das Kolloid zeigt in den peripheren Follikeln etwas intensivere Färbung und scheint daher hier etwas stärker eingedickt zu sein als im zentralen Gebiet. Im apikalen Zellanteil ist das Zytoplasma bei den meisten üblichen Färbemethoden wegen der hier vorhandenen Prosekretkörner intensiver gefärbt.

2. Die Schilddrüse der mit Thiouracil behandelten Ratten.

Die Schilddrüsen von nur kurze Zeit (7 Tage) behandelten Tieren sind stark vergrößert und gerötet. Zu Beginn der Thiouracilbehandlung ist ein recht gleichmäßiges Organbild zu beobachten; ein Größenunterschied zwischen den peripheren und zentralen Follikeln tritt nicht in Erscheinung. Die Anzahl der Follikel hat allgemein zugenommen, und ihr Schnittbild weicht stets von der normalen rundlich-ovalen Gestaltung ab; alle erscheinen unregelmäßig. Nach längerer Behandlungszeit (21 Tage), fällt eine leichte Vergrößerung der zentralen verzerrten Follikellumina auf, im Gegensatz zu den in der Peripherie gelegenen. Die Follikelepithelzellen werden unter der Thiouracilbehandlung hoch und schlank. Diese Zellveränderung ist nach längerer Behandlungszeit in den peripher gelegenen Organbezirken deutlicher als im Zentrum. Die Lumina werden stark eingeengt, so daß die Follikel beinahe tubuläres Aussehen annehmen; gelegentlich berühren sich sogar die apikalen Follikelzellbezirke. Das Kolloid kann vollständig fehlen oder ist bis auf geringe, zentral im Lumen gelegene, gut färbbare Reste reduziert. Im Follikelepithel der Zentralregion fallen ab und zu sichtlich vergrößerte und stärker gefärbte Zellen auf. Diese sind in Teilung begriffen, wobei die Chromosomen offenbar in der Metaphase stehen bleiben, was auf eine Störung im Mitoseablauf hindeutet (*Rerábek* und *Rerábek* 1947). Die Häufigkeit der Zellteilungsbefunde ist bei den 14 Tage lang behandelten Tieren am größten und nimmt dann wieder ab. Dieser Befund steht zwar im Gegensatz zu dem von den genannten Autoren beschriebenen Verhalten, wonach die größte Mitosehäufigkeit in den Beginn der Behandlung fällt und gleich anschließend eine Abnahme eintreten soll. Doch haben diese Autoren höhere Thiouracildosen verabreicht. Es besteht somit ein Zusammenhang zwischen Mitosezunahme einerseits und Behandlungsdauer sowie Dosierung anderseits.

Deutlich erkennt man die stark hypertrophierten Epithelzellkerne von runder bis länglich-ovaler Gestalt und das trübe, wegen Anhäufung der Pro-Sekretkörner an der Zelloberfläche stärker als an der Zellbasis gefärbte Zytoplasma. Gelegentlich fehlt einigen Zellen die apikale Kuppe, die ins Lumen abgestoßen wurde und sich hier im Kolloid aufzulösen scheint. Beachtenswert scheint uns eine verminderte Farbintensität sowohl der Kerne wie des Cytoplasmas im Vergleich zu den Kontrollorganen.

Im Plasma und in den Kernen zeigen sich überdies starke Unterschiede in der Färbungsintensität, was ebenfalls als ein Beweis für die tiefgreifende Thiouracilwirkung anzusehen ist. Die Kapillaren, welche die Follikel umspinnen, sowie die im interfollikulären Bindegewebe liegenden größeren Gefäße sind stark erweitert, besonders in der zentralen Organregion.

Da das charakteristische Thiouracilbild bereits nach kurzer Behandlungszeit auftritt, ohne sich nach weiterer Applikation wesentlich zu verändern, muß man annehmen, daß der Höhepunkt der Strukturveränderung bald nach Medikationsbeginn erreicht ist.

3. Die Schilddrüse der mit Thyroxin behandelten Ratten.

Werden Ratten mit Thyroxin behandelt, so erfolgt eine Verkleinerung der Schilddrüse, die infolge geringerer Blutversorgung – im Gegensatz zu den mit Thiouracil behandelten Organen – blaß und gelblich erscheint. Zu Beginn der Behandlung findet man im Organzentrum noch enge Follikel; nach längerer Medikation weiten sich alle Follikel und enthalten reichlich, kaum vakuolisiertes, gut färbbares Kolloid. Die größeren Follikel befinden sich in der Peripherie, die kleineren im Zentrum. Dieser Befund steht im Widerspruch zur Angabe *Kuschinskys* (1933), der die größeren Follikel in den zentralen Schilddrüsenanteilen beschrieben hat. Die Follikel epithelien werden unter dieser Medikation sehr flach und sind in der Peripherie etwas niedriger als im Zentrum. Mitotische Zellvermehrung ist nicht erkennbar. Die Epithelzellkerne sind der Zellform entsprechend fast queroval und nehmen beinahe die Zellhöhe ein; sie sind intensiv gefärbt. Im Cytoplasma findet sich nur in Apexnähe andeutungsweise eine dichtere Färbung. Die Pro-Sekretkörner fehlen fast vollständig. Die Kapillaren sind eng und kaum mehr sichtbar, da die benachbarten Follikel sehr nahe aneinander liegen. Im ganzen findet sich also das Bild einer ruhenden, inaktiven Schilddrüse, da infolge der Medikation die eigene Hormonproduktion des Organs offenbar mehr oder weniger eingestellt wird.

4. Die Schilddrüse der mit Thiouracil+Thyroxin behandelten Ratten.

Das Organ ist gegenüber dem unbehandelten leicht verkleinert. Das morphologische Bild zeigt bei der von uns gebrauchten Dosierung Ähnlichkeit mit der Thyroxin-Schilddrüse, da die Wirkung des Thyroxins diejenige des Thiouracils offenbar übertrifft. In der Organ-

peripherie begegnet man – wie beim Kontrollpräparat – einer schmalen Zone von weiten Follikeln, deren Durchmesser zum Zentrum hin rasch abnimmt. Die Follikel sind erweitert und mit gut färbbarem Kolloid ausgefüllt. Der nahe der Follikelepithelwand gelegene Kolloidanteil erscheint vakuolisiert. Die Vakuolisierung des Kolloids verringert sich mit der Zunahme der Behandlungsdauer. Das Epithel ist niedrig, die gut färbbaren Zellkerne sind plattgedrückt und erreichen die apikale Zelloberfläche meist nicht. Das Cytoplasma zeigt – wie im Thyroxinpräparat – fast gleichmäßige Färbung, und es besteht Mangel an Prosekretkörnern.

Auffallend sind in diesen Präparaten die interfollikulär gelegenen Epithelzellanhäufungen; ihr Vorhandensein deutet vermutlich auf die Entstehung neuer Follikel hin, die wohl auf die Thiouracilwirkung zurückzuführen ist, der Medikation aber etwas nachhinkt. Das interfollikuläre Bindegewebe und die Blutgefäße entsprechen denen der unbehandelten Schilddrüse. Nach allem dürfte es durchaus möglich sein, durch eine genaue Abstimmung der Dosierung beider Substanzen ein der unbehandelten Schilddrüse ähnliches oder sogar identisches histomorphologisches Bild zu erzielen.

V. Histochemische Befunde.

A. Alkalische Glycerophosphatase.

Im Gegensatz zu den Angaben der anderen Autoren (s. oben S. 248) ergab bei unseren Untersuchungen eine kürzere Inkubationszeit von zwei bzw. vier Stunden den optimalen Effekt. Es wurden auch Präparate nach 10- und 24stündiger Inkubation untersucht; doch ist die Reaktion dann so stark, daß eine Differenzierung der reagierenden Organteile erschwert bis unmöglich wird. Im folgenden werden daher die Befunde nach zwei und vierstündiger Inkubationszeit besprochen.

1. Kontrollorgan (Abb. 1).

Bei Lupenvergrößerung kann nach zwei- und vierstündiger Inkubationszeit ein leichter Intensitätsunterschied der Reaktion in den peripheren und zentralen Organbezirken beobachtet werden, und zwar ist die Reaktion peripher ein wenig stärker als zentral. Doch ist dieser Unterschied recht gering, daß es schwer fällt, ihn bei mikroskopischer Vergrößerung noch zu erkennen. Die Reaktion ist im Follikelepithel geringer als in den Gefäßwänden. Die Epithelzellkerne zeigen eine deutlich stärkere Reaktion als das sie umgebende

Zellplasma, das hellgrau erscheint. Der Nukleolus ist tief schwarz. Die Cytoplasmareaktion ist im apikalen Zellanteil etwas intensiver als basal, so daß die Abgrenzung gegen das Follikellumen scharf hervortritt. In den Endothelzellen der Kapillarwände und in deren Kernen ist besonders reichlich alkalische Glycerophosphatase vorhanden. In den größeren Gefäßen findet sich eine sehr starke Reaktion der Intima; bei längerer Inkubationszeit ist auch die Media leicht angefärbt. Da viele fermentreiche und daher schwarz angefärbte Kapillaren die Schilddrüsenfollikel umgeben, ist der Kontrast gegenüber dem heller erscheinenden Follikelepithel sehr deutlich. Infolge dieser Reaktion der Kapillaren erscheinen die Follikel wie von einer Membran ganz oder teilweise umschlossen, wobei die Follikelgrenze sehr deutlich in Erscheinung tritt. Hie und da vorhandene interfollikuläre Reaktionsanhäufungen stellen nichts anderes dar als Kapillaren, die sehr eng oder möglicherweise sogar lumenlos sind. Die im interfollikulären Gewebe liegenden Mastzellen enthalten sehr intensiv gefärbte Granula. Das Kolloid ist leicht grau getönt.

Nach längerer Inkubation scheint die Reaktion in allen reagierenden Gebieten gleichmäßig zugenommen zu haben. Doch verliert sich der Intensitätsunterschied zwischen den peripheren und zentralen Organbezirken. Die Kapillaren umkränzen deutlich jeden Follikel, dessen Zellreaktion auch zugenommen hat. Die Zellkerne sind schwarz, und das Cytoplasma ist grau. Die Cytoplasmareaktion äußert sich als Netzstruktur, die aus äußerst feinen Granula besteht und eine apiko-basale Intensitätsabnahme zeigt. Im Gebiet des apikalen Reaktionsmaximums dürfte der Golgi-Apparat der Zellen gelegen sein; doch kann kein zirkumskriptes Bild des *Golgi*-Apparates erkannt werden. Die interfollikulär gelegenen Kapillaren und die Kerne der Bindegewebszellen haben manchmal so stark reagiert, daß der basale Anteil der Epithelien direkt ins schwarze der Umgebung übergeht.

2. Die Schilddrüse der mit Thiouracil behandelten Ratten (Abb. 2).

Bereits nach einer Behandlungszeit von nur 7 Tagen hat die Reaktionsintensität der alkalischen Glycerophosphatase im Thiouracilorgan im Vergleich zum Kontrollorgan einen besonderen Aspekt angenommen. Es läßt sich eine leichte Differenz der Intensität zugunsten der Organperipherie feststellen. In den Epithelkernen ist die Reaktion ziemlich schwächer als im Kontrollorgan. Die Kerne erscheinen heller und blasser; die Reaktion des Nukleolus wird un-

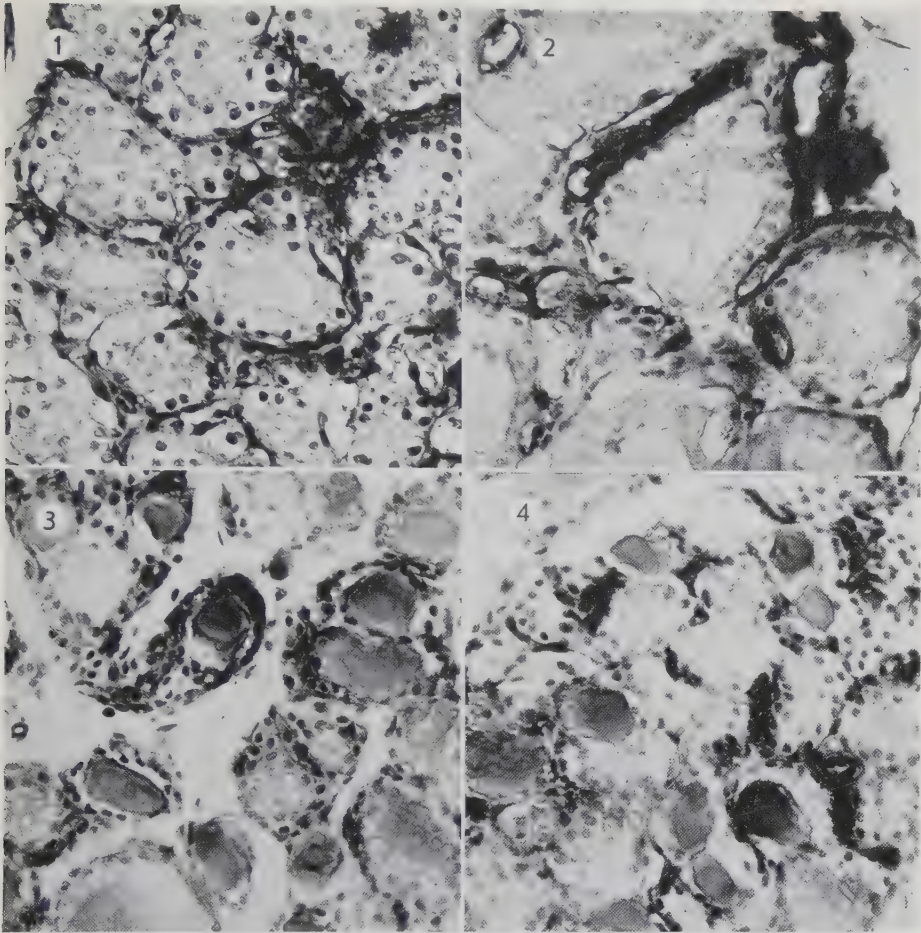


Abb. 1. Alkalische Glycerophosphatasereaktion, Kontrollratte. Inkubation 2 Std. Schnittdicke 10 μ . Vergr. 270 $\times$. Reaktion stark in den Gefäßwänden, mittelstark in den Epithelkernen, wenig im Cytoplasma. Abb. 2. Alkalische Glycerophosphatasereaktion bei einer 7 Tage mit Thiouracil behandelten Ratte. Inkubation 2 Std. Schnittdicke 10 μ . Vergr. 270 $\times$. Reaktion stark in den Gefäßwänden, wenig in den Kernen und kaum im Cytoplasma. Abb. 3. Alkalische Glycerophosphatasereaktion bei einer 7 Tage mit Thyroxin behandelten Ratte. Inkubation 2 Std. Schnittdicke 10 μ . Vergr. 270 $\times$. Reaktion stark in den Epithelkernen, Kolloid leicht angefärbt; Gefäße selten sichtbar. Abb. 4. Alkalische Glycerophosphatasereaktion bei einer 7 Tage mit Thiouracil+Thyroxin behandelten Ratte. Inkubation 2 Std. Schnittdicke 10 μ . Vergr. 270 $\times$. Deutliche Reaktion in den Epithelzellkernen; stärker als im Kontroll-, schwächer als im Thyroxinpräparat. Kolloid leicht angefärbt. Gefäße mit deutlicher Reaktion spärlich.

deutlich. Die Reaktion des Cytoplasmas nimmt in geringerem Maße ab als die der Kerne. Ein feiner apikaler Zellsaum erscheint dunkler als der basale Zellanteil. Die selten vorhandenen Kolloidreste sind grau gefärbt. Die Reaktion der sehr weiten Gefäße ist stark und nimmt mit der Behandlungsdauer etwas zu. Bei kurzer Inkubation (2 Stunden) reagieren lediglich die Gefäße; nur stellenweise zeigen auch die ihnen benachbart liegenden Zellkerne des Follikel epithels eine schwächere Reaktion. Die Endothelkerne sind häufig intensiver gefärbt als diejenigen der Epithelien. Die Zahl der interfollikulär gelegenen Mastzellen hat sich vermehrt.

3. Die Schilddrüse der mit Thyroxin behandelten Ratten (Abb. 3).

Auffallend ist die deutliche Zunahme der Reaktion im Epithel dieser Präparate gegenüber derjenigen in den Kontroll- und ganz besonders den Thiouracilpräparaten. Je länger die Tiere mit Thyroxin behandelt werden, um so deutlicher fällt eine stärkere Reaktion in der Peripherie auf, wo sich bekanntlich die weiteren Follikel mit niedrigerem Epithel finden.

Da das Epithel recht dünn ist, kann man wegen der sehr intensiven Fermentreaktion häufig die die Epithelzellen aufbauenden Bestandteile nur schwer differenzieren. Die Fermentreaktion lokalisiert sich in den Zellkernen und im apikalen Zellsaum, wo sie intensiver ist als in den Kontrollpräparaten. Das Kolloid hat mittelgrauen Farbton. Die Gefäße sind in spärlichem Ausmaß von der Reaktion erfaßt, erscheinen lumenlos und geben eine viel schwächere Reaktion als im Kontrollorgan.

Bei längerer Inkubation ist die Reaktion am Organschnitt gleichmäßig stark. Die Follikelwand präsentiert sich in diesem Falle als ein diffus schwarzes Band ohne Differenzierungsmöglichkeit der einzelnen sie aufbauenden Bestandteile; das Kolloid ist dunkel gefärbt.

4. Die Schilddrüse der mit Thiouracil+Thyroxin behandelten Ratten (Abb. 4).

Die Reaktion ist in den Follikeln stärker als in den Kontrollorganen und schwächer als in der Thyroxinschilddrüse. Die Erklärung hierfür liegt darin, daß die Wirkung des Thyroxins diejenige des Thiouracils übertrifft (s. auch S. 262). Die peripheren Schilddrüsenbezirke haben stärker reagiert als die zentralen. Die Epithelkerne

sind dunkel gefärbt, desgleichen die schmalen apikalen Zellanteile; das übrige Cytoplasma ist heller. Die Gefäße sind sehr eng und reagieren ziemlich schwächer als im Kontrollorgan. Das Kolloid ist grau und somit stärker gefärbt als im Kontrollorgan, ist aber blasser als unter ausschließlicher Thyroxinwirkung.

Bei einer Inkubation von mehr als 4 Stunden nehmen die Reaktionen im Epithel derart zu, daß die Präparate für eine Beurteilung unbrauchbar werden.

In den interfollikulär gelegenen Epithelzellanhäufungen findet sich eine mittelstarke Reaktion. Die Zellkerne sind fermentreich, und die Cytoplasmaschwärzung nimmt gegen die Zellperipherie hin leicht ab. Die Zellgrenzen sind manchmal als fein gefärbte, dunkle Linien erkennbar. Zwischen den einzelnen Zellanhäufungen liegen feine, enge Gefäße, die die zukünftigen Follikel abzugrenzen scheinen, und deren Wände stark reagieren.

B. Saure Glycerophosphatase.

Bei 24stündiger Inkubation erhalten wir die besten Resultate. Bei längerer Einwirkungszeit werden die Präparate für die Beurteilung ungeeignet.

1. Kontrollorgan (Abb. 6).

Eine ganz periphere, sehr schmale Zone des Organs gibt keine Fermentreaktion; im übrigen zeigt die Reaktionsintensität ein Gefälle vom Zentrum zur Peripherie. Die Epithelien der Schilddrüse, insbesondere deren Kerne zeigen eine positive Reaktion; diese erscheinen dunkelbraun bis schwarz (Pb-Sulfid), und ihr Nukleolus ist als tiefschwarzer Punkt sichtbar. Das Cytoplasma ist hellbraun und hebt sich vom Kern deutlich ab, da noch eine leichte perinukleäre Aufhellung hinzukommt. Die Reaktion des Cytoplasma ist granulär, wobei die Granula deutlich größer sind als bei der alkalischen Reaktion. Sie sind besonders als ein dichter Randsaum im apikalen Zellanteil lokalisiert. Oft imponiert dieser dichte Randsaum als eine zirkumskripte Reaktionsanhäufung im Bereiche des supranukleären Zellabschnittes, in dem der *Golgi*-Apparat der Zellen gelegen sein dürfte (Abb. 5). Nach der Zellbasis zu verliert sich die Reaktion; deshalb erscheint die basale Zellgrenze im Gegensatz zur apikalen verschwommen. Dieser Befund stellt einen deutlichen Unterschied gegenüber dem Verhalten der alkalischen Glycerophosphatase dar.

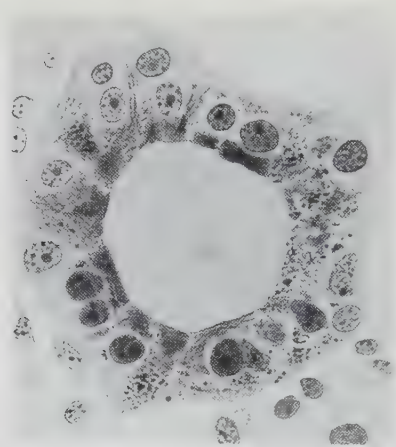


Abb. 5. Saure Glycerophosphatasereaktion, Kontrollratte. Inkubation 20 Std. Schnittdicke 10 μ . Vergr. ca. 600 $\times$. Die supranukleären cirkumskripten Reaktionsanhäufungen der sauren Glycerophosphatase wurden bei starker Vergrößerung gezeichnet; sie entsprechen möglicherweise dem Golgiapparat.

An einigen Stellen ist das Cytoplasma so hell, daß die dunklen Zellkerne wie alleinstehend in Erscheinung treten. Je dunkler der Kern, um so dunkler ist meist auch das Cytoplasma; nur hie und da geben interfollikulär gelegene Zellkerne, die dem Bindegewebe angehören dürften, eine leicht positive Reaktion. Die Farbe des Kolloids entspricht der des Cytoplasmas. Länger dauernde Einwirkung der Inkubationslösung (z. B. 72 Stunden) bedingt Intensivierung der Reaktion in den Kernen und besonders in der apikalen Region des Cytoplasma. Auch die interfollikulären Zellkerne werden schwärzer. An manchen Stellen des Präparates stellt das Follikelepithel ein schwarzes Band dar, wodurch die Struktur der das Epithel aufbauenden Bestandteile sich der Beobachtung entzieht. Der basale Teil der Epithelien zeigt sich dort deutlicher begrenzt, wo die endotheliale Gefäßwand den Zellen sehr eng anliegt, und zwar wegen des Farbunterschiedes zwischen den Epithelzellen und dem wasserklar erscheinenden Gefäßlumen.

2. Die Schilddrüse der mit Thiouracil behandelten Ratten (Abb. 7).

Zwischen den peripheren und zentralen Drüsenbezirken besteht ein leichter Reaktionsunterschied, und zwar ist peripher eine etwas stärkere Reaktion vorhanden. Die Schwärzung der Zellkerne

ist intensiver geworden als im Kontrollpräparat. Sie nimmt auch im Cytoplasma zu. Eine kürzere Thiouracilbehandlung (7 Tage) läßt eine apiko-basal gerichtete Abnahme der Cytoplasmareaktion erkennen. Bei länger dauernder Einwirkung hingegen (14+21 Tage) wird die Reaktion des Plasma meist einigermaßen gleichmäßig; nur der apikale Zellsaum hebt sich als eine feine dunkle Linie ab. Die im Vergleich zum Kontrollpräparat größeren Zellkerne zeigen unter sich eine leicht unregelmäßige Reaktion. Die Endothelkerne der weiten Kapillaren lassen in ihrer Braunfärbung eine leicht positive Reaktion erkennen. Die Gefäßbegrenzung selbst erweist sich als Farbunterschied, indem das Gefäßlumen klar und das interfollikuläre Gewebe gelblich erscheint. Die selten gewordenen Kolloidreste im Follikellumen sind dunkelbraun gefärbt.

3. Die Schilddrüse der mit Thyroxin behandelten Ratten (Abb. 8).

In diesen Organen ist die Reaktion des Schilddrüsenepithels schwächer als in den Thiouracil- und Kontrollschilddrüsen. Die Epithelkerne reagieren mittelstark. Sie sind von einem helleren Protoplasma umgeben, welches apikal leicht dunkel gefärbt ist. Im Gegensatz zu den Kontrollpräparaten ist von den in der apikalen Zellregion häufig lokalisierten dunkel gefärbten Granulis (*Golgi-Apparat*?) kaum mehr etwas zu sehen, außer einer dunkler gefärbten Zellgrenzlinie. Die basale Zellgrenze läßt sich mitunter im Gegensatz zum Kontroll- und Thiouracilorgan deutlich erkennen, so daß man die morphologische Struktur einigermaßen überblicken kann. Das Kolloid ist deutlich sichtbar und gleichmäßig dunkelbraun angefärbt. Länger dauernde Thyroxinbehandlung (14+21 Tage) bedingt in den zentralen Organbezirken eine gewisse Zunahme der Reaktion.

Nach 72stündiger Inkubation lassen sich die Reaktionsunterschiede zwischen der Peripherie und dem Zentrum des Organs immer noch erkennen. Wo das Cytoplasma heller erscheint, kann die Zellstruktur noch erkannt werden; sonst erscheint das Follikelepithel als gleichmäßig schwarzes Band.

4. Die Schilddrüse der mit Thiouracil+Thyroxin behandelten Ratten (Abb. 9).

Die Reaktionsintensität ist bei diesen Präparaten schwächer als in der Thiouracil- und Kontrollschilddrüse, jedoch stärker als im Thyroxinorgan. In den zentralen Bezirken der Schilddrüse ist die Reaktion stärker als in den peripheren; dieser Befund ändert nicht

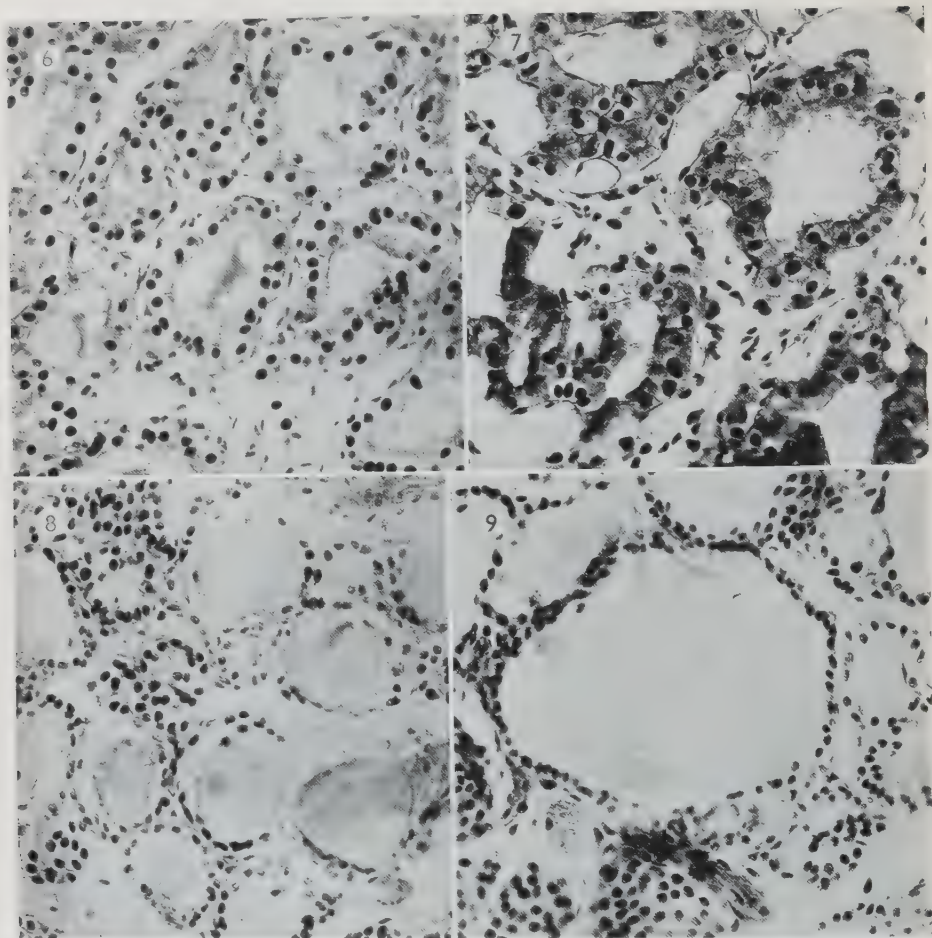


Abb. 6. Saure Glycerophosphatasereaktion, Kontrollratte. Inkubation 24. Std. Schnittdicke 10 μ . Vergr. 270 $\times$. Reaktion stark in den Epithelkernen, leicht im Cytoplasma. Abb. 7. Saure Glycerophosphatasereaktion bei einer 7 Tage mit Thiouracil behandelten Ratte. Inkubation 24 Std. Schnittdicke 10 μ . Vergr. 270 $\times$. Sehr starke Reaktion in den Epithelkernen; auch Cytoplasmareaktion stärker als im Kontrollorgan. Abb. 8. Saure Glycerophosphatasereaktion bei einer 7 Tage mit Thyroxin behandelten Ratte. Inkubation 24 Std. Schnittdicke 10 μ . Vergr. 270 $\times$. Reaktion in den Epithelkernen geringer als im Kontrollpräparat; Kolloid leicht angefärbt. Abb. 9. Saure Glycerophosphatasereaktion bei einer 7 Tage mit Thiouracil+Thyroxin behandelten Ratte. Inkubation 24 Std. Schnittdicke 10 μ . Vergr. 270 $\times$. Reaktion in den Epithelkernen etwas stärker als im Thyroxinpräparat und schwächer als im Kontrollpräparat.

mit der Behandlungsdauer. Die Kerne reagieren schwächer als in den Thiouracildrüsen. Im Cytoplasma sind hellbraune Granula in geringerer Anzahl als im Kontrollorgan vorhanden. Die Cytoplasma-reaktion zeigt eine apiko-basal gerichtete Abnahme. Die apikalen Zellgrenzen sind deutlich, weniger die basalen. An denjenigen Stellen, wo die Epithelzellen höher sind, erkennt man sogar die Zwischenzellgrenzen. Die Kolloidfärbung entspricht derjenigen bei den Thyroxinpräparaten. Die Kerne der interfollikulär gelegenen Zellhaufen zeigen nach 24stündiger Inkubation eine starke Reaktion. Diese Zellhaufen sind jedoch etwas weniger enzymhaltig als die Kerne der Follikelepithelien, die tiefschwarz sind.

VI. Diskussion.

Bei unseren Untersuchungen konnte die Inkubationszeit für die alkalische und saure Glycerophosphatasereaktion gegenüber den Literaturangaben (Autoren siehe oben S. 248) stark herabgesetzt werden, auf 2 bzw. 24 Stunden. Länger dauernde Einwirkung der Inkubationslösung bedingt zunehmende Reaktion, und die Präparate werden zur Beurteilung und quantitativen Auswertung ungeeignet. Die Schilddrüse wird durch die verabreichten Substanzen in einen jeweils verschiedenen Aktivitätszustand versetzt. Die geweblichen Veränderungen treten sehr rasch auf (*Rerábek* und *Rerábek* 1947) und erstrecken sich auch auf das Verhalten der Phosphatasen. Auf diese letztere Tatsache wurde bereits von *Dempsey* und *Singer* (1946) sowie von *Dempsey* (1949) an Hand von Versuchen über die Einwirkung verschiedener Temperaturen sowie der Darreichung von Thiouracil (auch *Kroon* 1949, *Grunt* und *Leathem* 1949) hingewiesen.

In den Schilddrüsen der mit *Thiouracil* behandelten Ratten nimmt die Intensität der *alkalischen* Glycerophosphatasereaktion gegenüber den Kontrollorganen ab und zwar stark in den Zellkernen und weniger im Cytoplasma des Follikelepithels, während sie in den Gefäßwänden beträchtlich zunimmt (*Kroon* 1949). Die Reaktion des *sauren* Fermentes hingegen, die in den Kapillarwänden fehlt, nimmt in den Epithelkernen sichtlich zu.

Behandlung mit *Thyroxin* bedingt eine starke Zunahme der Reaktion des *alkalischen* Fermentes in den Kernen der Follikelepithelien und eine schwächere Zunahme in deren Cytoplasma. Die beinahe lumenlosen Gefäße zeigen eine geringere Reaktion als in den Kontrollorganen. Die Reaktion des *sauren* Enzyms nimmt im Follikelepithel stark ab.

Kombinierte Behandlung mit *Thiouracil*+*Thyroxin* bewirkt in unseren Präparaten beinahe das unter der Thyroxinmedikation entstehende Organbild. Nur sind die quantitativen Fermentreaktionen etwas weniger intensiv: Leichte Zunahme der Reaktion des *alkalischen* Fermentes im Epithelgewebe (Kern und Cytoplasma) und in den Kernen der interfollikulär gelegenen Epithelzellanhäufungen sowie leichte Abnahme der Reaktion in den Gefäßwänden; die Reaktion des *sauren* Enzyms zeigt im Epithelgewebe deutliche Abnahme.

Vergleicht man die Organe bei längerer (21tägiger) und kürzerer (7tägiger) Behandlungsdauer, so gelangt man zur Feststellung, daß das für die betreffende Substanz spezifische Verhalten der Fermentreaktion mit zunehmender Einwirkungszeit im allgemeinen etwas deutlicher wird. Die Reaktion des Kolloids nimmt sowohl für das alkalische wie für das saure Ferment unter Thyroxinbehandlung sowie unter der Behandlung von *Thiouracil*+*Thyroxin* gegenüber den Kontrollorganen stark zu. Die unter *Thiouracil*wirkung noch vorhandenen geringen Kolloidreste werden ebenfalls angefärbt.

Zur Abklärung der Frage, ob diese Reaktion des Kolloids spezifisch ist, wurden Präparate einer Inkubationslösung ohne Substrat (Na- β -Glycerophosphat) ausgesetzt und andererseits die Phosphatasen durch Hitze (75° C) inaktiviert. Das Kolloid gibt in solchen Präparaten fast keine Reaktion und zwar weder im alkalischen noch im sauren Bereich. Wir glauben daher zur Annahme berechtigt zu sein, daß die Kolloidreaktion zum Großteil – neben einer geringeren unspezifischen Komponente – eine spezifische ist, im Gegensatz zur Annahme *Gomoris* (1941) der die Kolloidreaktion als unspezifisch angesehen hat.

In der mit *Thiouracil* behandelten Schilddrüse finden sich die größeren, weiten, von niedrigem Epithel ausgekleideten Follikel im Organzentrum statt in der Peripherie, wie dies beim Kontrollorgan der Fall ist. Die Umkehr dieses Verhaltens äußert sich noch deutlicher im Bild der Phosphatasereaktionen, wenigstens für das saure Ferment. Die Reaktion des sauren Fermentes ist im Gegensatz zum Kontroll- und Thyroxinpräparat peripher intensiver als zentral. Bei der Reaktion des alkalischen Fermentes sind diese Unterschiede nicht ersichtlich, da die Reaktionen an allen Präparaten peripher intensiver ausfallen. Die Angabe von *Dempsey* und *Singer* (1946), sowie von *Dempsey* (1948), nach der eine alkalische Phosphatase-reaktion nur in den inaktiven peripheren, eine saure nur in den

aktiven zentralen Follikeln vorhanden sein soll, wird also durch meine Befunde nicht bestätigt. Wohl ist in den Kontrollorganen bei kurzer Inkubation die Reaktionsintensität des alkalischen Fermentes in der inaktiveren Peripherie, diejenige des sauren Fermentes im aktiven Zentrum deutlicher, doch sind beide Enzyme im Gegensatz zu den Befunden der genannten Autoren in allen Organpartien nachweisbar.

Unter dem Einfluß des Thiouracils erfolgt ein erstaunlicher Umbau der Schilddrüsenstruktur. Die kleineren, mit höheren Zellen ausgekleideten Follikel liegen peripher; die alkalische wie die saure Glycerophosphatasereaktion zeigt sich im peripheren Organ intensiver als zentral. Das aktivere Gebiet der Schilddrüse scheint demnach peripher gelegen zu sein. Die Blutgefäße sind allerdings im Organzentrum weiter als in der Peripherie, was nach *Cramer und Ludford* (1926), sowie nach *Allara* (1937) für eine erhöhte Drüsen-tätigkeit sprechen soll.

Unter der Thiouracilbehandlung vermindert sich die Intensität der üblichen Färbungen (Hämalaun-Benzopurpurin, Kernechtrot-Lichtgrün, Azan) gegenüber den Kontrollpräparaten. Dieser Befund steht vermutlich im Zusammenhang mit der relativen und absoluten Abnahme der Nucleo-Proteinsubstanzen (Ribo- und Desoxyribonucleinsäure) nach *Rerábek und Rerábek* (1947), da die Phosphatasen in die Nucleoproteinsubstanzen der Zellen lokalisiert werden (*Deane* 1947). Gemeinsame Verabreichung der beiden Substanzen (Thiouracil+Thyroxin) läßt in unseren Präparaten eher das unter Thyroxinbehandlung entstehende Bild erkennen, da die Thyroxinwirkung offenbar diejenige des Thiouracils übertrifft.

VII. Zusammenfassung.

Während 7, 14 und 21 Tagen wurden Ratten mit Thiouracil, mit Thyroxin sowie mit beiden Substanzen behandelt. Mit Hilfe der histochemischen Nachweismethoden für die saure und alkalische Phosphatase wurde das Verhalten der Glycerophosphatasen in der Schilddrüse der Versuchs- und der Kontrolltiere geprüft. Auf Unterschiede, die einerseits auf verschieden lang dauernde Applikation der Pharmaka und andererseits auf einer verschieden langen Inkubation beruhen, wurde geachtet. Daneben wurden Organschnitte mittels der üblichen Färbemethoden zwecks Prüfung des mikroskopisch-anatomischen Bildes gefärbt.

Die verabreichten Substanzen verändern das Phosphatasebild der Schilddrüse in verschiedener Weise. Im einzelnen wurden folgende Befunde erhoben:

1. Die optimale Inkubationsdauer für die Reaktion des alkalischen Fermentes beträgt zwei und vier Stunden, diejenige für das saure Ferment 24 Stunden.

2. Alkalische Glycerophosphatase-Reaktion zeigt sich in der normalen Kontrollschilddrüse zuerst und am stärksten in den Gefäßwänden, ein wenig später und schwächer im Schilddrüsenepithel.

3. Saure Glycerophosphatasereaktion findet sich beim Kontrolltier nur im Epithelgewebe der Thyreoidea.

4. Thiouracil bedingt Abnahme der Reaktionsintensität der alkalischen Glycerophosphatase im Follikelepithel, Zunahme derselben in den Kapillarwänden; andererseits bewirkt es eine Zunahme der sauren Glycerophosphatasereaktion im Epithelgewebe der Schilddrüse.

5. Thyroxin ruft Intensitätszunahme der alkalischen und Abnahme der sauren Glycerophosphatasereaktion im Epithelanteil der Schilddrüse hervor. Die Reaktion in den Gefäßwänden nimmt etwas ab.

6. Besondere Beachtung wurde der topographischen Lokalisation der Fermentreaktionen im Organschnitt unter Einwirkung der Substanzen und den durch diese hervorgerufenen morphologischen Veränderungen geschenkt. An den Kontroll- und den mit Thyroxin behandelten Organen findet sich die alkalische Fermentreaktion stärker in den peripheren, inaktiven und die des sauren Fermentes in zentralen, aktiver erscheinenden Follikeln; dieses Verhältnis kehrt sich unter Thiouracilbehandlung um.

7. Die positive Reaktion des Kolloids ist in der Hauptsache als spezifisch zu betrachten, neben einer vorhandenen unspezifischen Komponente.

8. Thiouracilbehandlung vermindert die Farbintensität der Präparate bei bekannten Färbemethoden (Hämalaun-Benzopurpurin etc.) im Vergleich zu denen der Kontrolltiere, was vermutlich mit der Abnahme der Zellnukleoproteinsubstanzen zusammenhängt.

9. Kombinierte Behandlung mit Thiouracil+Thyroxin bewirkt eine gegenseitige Aufhebung der beiden Wirkungen; nur das verabreichte Mehr einer Substanz kommt histomorphologisch und histochemisch zur Geltung. Daraus darf geschlossen werden, daß Thyroxin unter Umständen die Thiouracilwirkung aufheben kann.

Summary.

The activity of the thyroid gland of the rat changes under the influence of thiouracil and thyroxine. The reaction of both the alkaline and the acid glycerophosphatase is examined by using the histochemical method described.

The alkaline glycerophosphatase reaction appears at first in the normal control-gland and it is strongest in the walls of the vessels, it appears a little later and is less marked in the thyroid epithelium. The acid reaction appears in the normal thyroid gland in the epithelial tissue only.

Under the influence of thiouracil the intensity of the alkaline glycerophosphatase reaction decreases in the follicular epithelium and it increases in the walls of the capillaries. The acid ferment reaction increases in the epithelial tissue of the thyroid gland.

Thyroxine causes an increase of the intensity of the alkaline and a decrease of the acid glycerophosphatase reaction in the epithelial part of the thyroid gland; the reaction in the walls of the vessels decreases.

In both the central organs and the organs treated with thyroxine the alkaline ferment reaction appears stronger in the central, active follicles. The opposite relation appears under thiouracil treatment.

The colloid reactions have to be considered as being mainly specific besides to a non-specific component part.

By the treatment with thiouracil the intensity of staining of the specimens by the usual methods (Haemalum-Benzopurpurin) is reduced in comparison with the specimens of control animals. This depends probably on the decrease of the nucleoprotein substances of the cells.

Combined treatment with thiouracil as well as thyroxine neutralizes the effects of both of them; the larger amount only of any of the two substances produces a histomorphological and histochemical result. It follows from this that thyroxine can neutralize the effect of thiouracil.

Résumé.

L'activité de la glande thyroïde du rat est modifiée par le thiouracil et la thyroxine. L'auteur a étudié le comportement de la phosphatase alcaline et de la phosphatase acide à l'aide des méthodes histochimiques connues:

La réaction de la glycérphosphatase alcaline apparaît chez les contrôles normaux tout d'abord dans les parois vasculaires où elle est particulièrement intense; elle est plus tardive et plus faible dans l'épithélium thyroïdien.

La réaction de la phosphatase acide ne se produit que dans l'épithélium de thyroïdes normales.

Le *thiouracil* provoque une diminution de la réaction de la glycérphosphatase alcaline dans l'épithélium et une augmentation dans les parois capillaires; elle détermine d'autre part une augmentation de la réaction acide dans l'épithélium thyroïdien.

La *thyroxine* augmente l'activité de la réaction alcaline et diminue la réaction acide dans l'épithélium; la réaction des parois vasculaires diminue, mais peu. Chez les contrôles et chez les animaux traités avec de la thyroxine, la réaction alcaline est plus accentuée dans les régions périphériques, inactive des follicules; la réaction acide est plus accentuée dans les régions centrales, actives des follicules. Le thiouracil renverse ces proportions.

Les réactions de la colloïde doivent être considérées comme spécifiques pour la plus grande part, bien qu'une partie soit non-spécifique.

L'intensité des colorations par les méthodes ordinaires (Hémalun-Benzopurpurine, etc.) diminue sous l'influence du traitement par le Thiouracil; ce fait pourrait être expliqué par une diminution de substances nucléo-protidiques des cellules.

Par la combinaison thiouracil+thyroxine on obtient des réactions variables selon le dosage des deux substances, chacune tendant à annihiler l'influence de l'autre. Seul le surplus d'une substance se manifeste par des modifications histologiques ou histo-chimiques. Il en résulte que la thyroxine est capable d'arrêter et de supprimer l'action du thiouracil.

Riassunto.

Medicazioni con tiouracile e tiroxina cambiano l'attività della ghiandola tiroide di topi; sotto questo influsso viene esaminato con un metodo istochimico descritto il comportamento della glicerosfatasi alcalica ed acida.

La reazione della glicerosfatasi alcalica si manifesta prima ed assai intensiva nelle pareti vascolari, poi e meno intensiva nel epitelio tiroideo.

La reazione acida si localizza solamente nel tessuto epiteliale della tiroide.

Sotto l'effetto di tiouracile diminuisce l'intensità della reazione della glicerofosfatasi alcalica nell'epitelio follicolare ed aumenta nelle pareti vasali; d'altra parte aumenta la reazione enzimatica acida nel tessuto epiteliale della tiroide.

Sotto l'influsso di tiroxina aumenta l'intensità della reazione alcalica della glicerofosfatasi e diminuisce quella acida nel tessuto follicolare; la reazione alcalica nelle pareti vascolari invece diminuisce un pò.

Negli organi di controllo ed in quelli trattati con tiroxina si trova la reazione enzimatica alcalica più forte in follicoli inattivi, localizzati alla periferia della ghiandola tiroide che quella acida in follicoli attivi nel centro dell'organo; questa relazione si inverte sotto medicazione di tiouracile.

Le reazioni enzimatiche che si incontrano anche nel colloide sono in maggior parte specifiche accanto ad una componente aspecifica.

Sotto l'influsso di tiouracile diminuisce l'intensità delle colorazioni notarii (Azan ecc.) nei preparati in confronto a quelli di controllo; questo fatto sta probabilmente in rapporto con la diminuzione delle sostanze nucleoproteiniche nelle cellule epiteliali.

Medicazione combinata con le due sostanze: tiouracile e tiroxina, produce un'eliminazione dei due effetti; solamente il più di una delle due sostanze è efficace per una variazione del quadro istomorfologico ed istochimico della ghiandola tiroide.

VIII. LITERATUR.

- Allara, E.: Arch. ital. Anat. 37, 269, 1937. — Astwood, E., J. Sullivan, A. Bissell and R. Tyslowitz: Endocrinology 32, 210, 1943. — Bargmann, W.: in v. Moellendorff's Handb. d. mikr. Anat. d. Menschen, Bd. VI/2, Berlin 1939. — Baur, H.: Z. Vitamin-, Hormon- und Fermentforsch. 2, 507, 1948-49. — Bourne, J., V. Mackenzie and V. Mackinnon: Quart. J. exp. Physiol. 32, 1, 1944. — Cramer, W. and R. Ludford: J. Physiol. 61, 398, 1926. — Danielli, J.: J. exp. Biol. 22, 110, 1946. — Deane, H.: Amer. J. Anat. 80, 321, 1947. — Dempsey, E.: Endocrinology 34, 27, 1944; Rec. Progr. Hormone Res. 3, 127, 1948; Ann. New York Acad. of Sci. 50, 336, 1949. — Dempsey, E. and E. Astwood: Endocrinology 32, 509, 1943. — Dempsey, E. and M. Singer: Endocrinology 38, 270, 1946. — Eggert, B.: Z. Zool. 147, 537, 1935/36. — Engle, T. and H. Aranow: Endocrinology 38, 325, 1946. — Florentin, P.: La glande thyroïde des mammifères, Nancy 1932. — Folley, S. und H. Kay: Ergebnisse d. Enzymforsch. 5, 159, 1936. — Glick, D.: Adv. in Enzymol. Vol. IX, New York 1949. — Gomori, G.: Proc. Soc. exper. Biol. and Med. 42, 23, 1939; Arch. Path. 32, 189, 1941a; J. cell. and comp. Physiol. 17, 71, 1941b; Amer. J. clin. Path. 16, 347, 1946. — Grunt, J. A. and J. H. Leatham: Proc. Soc. exper. Biol. and Med. 72, 218, 1949. — Haurowitz, F.: Fortschritte der Biochemie 1938-1947, Basel-New York 1948. — Higgins, G. and L. Dwight: Endocrinology 38, 110, 1946. — Koszyk, J.: Bull. internat. Acad. Pol. Sci. Cl. Méd. 1936, p. 563. — Kroon, O. B.: Acta Endocrinol. 2, 227, 1949. — Kuschinsky, G.: Arch. exper. Path. 170, 510, 1933. — Loeser, A.: Arch. exper. Path. 176, 697, 729, 1934; 180, 23, 1936. — Mackenzie, G. and I. Mackenzie: Endocrinology 32, 185, 1943. — Meier, A. L.: Acta Anat. 11, 192, 1950. — v. Moellendorff, W. (Stoehr, Ph.) Lehrb. d. Histol. u. mikr. Anat. d. Menschen, 24. Aufl., Jena 1940. — Rawson, R., J. Tannheimer, and W. Peacock: Endocrinology 34, 245, 1944. — Reräbek, J. and E. Reräbek: Acta Physiol. Scand. 14, 276, 1947. — Romeis, B.: Mikr. Technik, 15. Aufl., München 1948. — Roulet, F.: Methoden der path. Histologie, Wien 1948. — Takamatsu, H.: Trans. Soc. path. jap. 29, 492, 1939 (zit. nach Gomori u. a.). — Trendelenburg, P.: Die Hormone, Bd. II, Berlin 1934. — Veržár, F.: Lehrb. d. inneren Sekretion, Liestal 1948. — Williams, R. and G. Bissell: Science 98, 156, 1943. — Wolf, A., E. Kabat and W. Newman: Amer. J. Path. 19, 423, 1943.

Eingegangen 1. Juli 1950.